Test CEDIA® Benzodiacepina



IVD **Para Usarlo En Diagnóstico In Vitro**

REF 10016409 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100085 (Kits de 3 x 17 mL)
100094 (Kits de 65 mL)
1775561 (Kits de 495 mL)

Indicaciones

El análisis CEDIA® Benzodiacepinas es un dispositivo médico para diagnóstico in vitro indicado para el análisis cualitativo y semicuantitativo de benzodiacepinas en orina humana.

El análisis sólo ofrece un resultado analítico preliminar. Para obtener un resultado analítico confirmado debe emplearse un método químico alternativo más específico. El método de confirmación recomendado es la técnica combinada de cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM).[1] Al valorar resultados analíticos referentes a drogas, y sobre todo cuando se trata de resultados positivos preliminares, deben aplicarse consideraciones clínicas y el criterio profesional.

Resumen y explicación del análisis

Las benzodiacepinas pertenecen a una clasificación amplia de drogas depresoras del sistema nervioso central que se conocen como sedantes/hipnóticos.[2] Se recetan como ansiolíticos, somníferos, anticonvulsivos, relajantes musculares y también se utilizan frecuentemente como medicamentos preanestéticos y para complementar, inducir y mantener la anestesia.[2,3,4]

Aunque se recetan frecuentemente, las benzodiacepinas presentan riesgo de toxicomanía.[3-5] El uso crónico puede provocar dependencia física, con síntomas de abstinencia como insomnio, agitación, irritabilidad, tensión muscular y, en casos graves, alucinaciones, psicosis y convulsiones.[2,3]

El análisis CEDIA Benzodiacepinas emplea la tecnología del ADN recombinante (patente estadounidense n.º 4708929) para producir un sistema único y homogéneo de enzimoinmunoanálisis.[6] Este análisis se basa en la enzima bacteriana β-galactosidasa, que se ha preparado genéticamente dividiéndola en dos fragmentos inactivos. Estos fragmentos se vuelven a asociar espontáneamente para formar una enzima totalmente activa que, en el formato del análisis, descompone un sustrato y genera un cambio de color que puede medirse mediante espectrofotometría.

En el análisis, la droga conjugada con un fragmento inactivo de la β-galactosidasa compite con la droga de la muestra en busca de un sitio de fijación de anticuerpos. Si la muestra contiene droga, se fija al anticuerpo. Los fragmentos inactivos forman una enzima activa. Si la muestra no contiene benzodiacepina, el anticuerpo se fija a la benzodiacepina conjugada en el fragmento enzimático inactivo e impide la recombinación de los fragmentos inactivos de β-galactosidasa, impidiendo a su vez la formación de una enzima activa. La cantidad de enzimas activas formadas y el correspondiente cambio de absorbancia es proporcional a la cantidad de droga presente en la muestra.

Para mejorar la sensibilidad del análisis, se añade un enzima opcional que hidroliza los metabolitos glucurónidos de las benzodiacepinas, incrementando así la cantidad de pruebas con metabolitos de benzodiacepina que puedan identificarse.[7,8]

Reactivos

- **1 Amortiguador de reconstitución de AE:** Contiene piperazina-N, N-bis (ácido 2-etanosulfónico), 13,6 µg/mL de anticuerpos policlonales anti-benzodiacepinas (oveja), sales amortiguadoras y conservante.
- **1a Reactivo de AE:** Contiene 0,171 g/L de aceptor enzimático, sales de tampón, detergente y conservante.
- **2 Amortiguador de reconstitución de DE:** Contiene piperazina-N, N-bis (ácido 2-etanosulfónico), sales de tampón y conservante.
- **2a Reactivo de DE:** Contiene 9,7 µg/L de donante enzimático conjugado a un derivado benzodiacepínico, 1,67 g/L de rojo de clorofenol-β-D galactopiranósido, estabilizador y conservante.

Material adicional Material adicional: Etiquetas de código de barras alternativas (para los números de catálogo 100085 y 100094. Consulte el modo de empleo en la aplicacion específica del analizador.) Envase de analizador vacíos para trasvasar las soluciones de AE y DE (número de catálogo 100094). Envase de analizador vacíos para trasvasar las soluciones de AE (número de catálogo 1775561).

Material adicional requerido (se vende por separado):

Calibrador CEDIA negativo
Calibrador CEDIA multidrogas con cut-off primarios o cut-off clínicos primarios (300ng/mL)
Calibrador CEDIA multidrogas con cut-off secundarios o cut-off optativos (200ng/mL)
Calibrador CEDIA multidrogas intermedio
Calibrador CEDIA multidrogas alto
Conjunto de controles específicos
o conjunto de controles optativos (para el cut-off de 200ng/mL)
Conjunto de controles multidrogas
o conjunto de controles clínicos (para el cut-off de 300ng/mL)
Reactivo de b-glucuronidasa (para el análisis de alta sensibilidad)
Código de barras alternativo para aplicación de alta sensibilidad:
Para uso con los analizadores Hitachi 911, 912 y 917

⚠ Precauciones y advertencias

Los reactivos contienen azida sódica. Evite el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto, lave las áreas afectadas con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o de ingestión, consulte inmediatamente con un médico. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas que pueden ser explosivas. Al desechar dichos reactivos debe enjuagarse siempre con abundante agua para evitar la acumulación de azidas. Limpie las superficies metálicas expuestas con hidróxido sódico al 10%.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

A continuación se describe la preparación de las soluciones para los analizadores Hitachi. Consultar la hoja de aplicaciones específica al analizador para obtener más detalles. Extraiga el kit del almacenamiento refrigerado inmediatamente antes de preparar las soluciones.

Prepare las soluciones en el orden siguiente para reducir el riesgo de una posible contaminación.

Solución de donante enzimático R2: Conecte el envase 2a (reactivo de DE) al envase 2 (amortiguador de reconstitución de DE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del envase 2a pasa al envase 2. Evite la formación de espuma. Separe el envase 2a y el adaptador del envase 2 y deséchelos. Tape el envase 2 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del envase.

Solución de aceptor enzimático R1: Conecte el envase 1a (reactivo de AE) al envase 1 (amortiguador de reconstitución de AE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del envase 1a pasa al envase 1. Evite la formación de espuma. Separe el envase 1a y el adaptador del envase 1 y deséchelos. Tape el envase 1 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del envase.

Número de catálogo 100094, analizador Hitachi 717, 911, 912 ó 914: Trasvase los reactivos reconstituidos a los envases de 100 mL vacíos R1 y R2 correspondientes suministrados con el kit. **Analizador Hitachi 917 y Sistema Modular Analytics P:** Utilice los reactivos reconstituidos sin trasvasar los envases. Deseche los envases de 100 mL vacíos.
Número de catálogo 1775561, analizador Hitachi 747 y Sistema Modular Analytics D: Trasvase una parte de la solución R2 mediante el embudo al envase vacío, con etiqueta correspondiente, para R2.
Alta sensibilidad a las benzodiacepinas: Para usar el reactivo opcional con β-glucuronidasa se agregan 0,09 mL de β-glucuronidasa para el n.º de cat. 100085, 0,425 mL para el n.º de cat. 100094, y 2,5 mL para el n.º de cat. 1775561 a la solución del AE reconstituido. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión. Anotar en la etiqueta del envase que se ha agregado β-glucuronidasa.

NOTA 1: Los componentes suministrados en este kit están concebidos para utilizarse como una unidad integral. No mezcle componentes de lotes diferentes.
NOTA 2: Para evitar la contaminación cruzada de los reactivos, no intercambie los tapones de los envases de reactivo. La solución R2 debe presentar un color amarillo naranja. Un color rojo oscuro o rojo púrpura indica que el reactivo está contaminado y debe desecharse.
NOTA 3: Antes de realizar el análisis, las soluciones R1 y R2 deben estar a la temperatura de almacenamiento del compartimiento de reactivos del analizador. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.
NOTA 4: Para garantizar la estabilidad del reactivo de AE reconstituido, evite la exposición continuada y prolongada a luz brillante.

Almacene los reactivos a entre 2 y 8°C. **NO LOS CONGELE.** Para determinar la estabilidad de los componentes sin abrir, consulte la fecha de caducidad en las etiquetas de la caja o del envase.

Solución R1: 60 días refrigerada en el analizador a entre 2 y 8°C.
Solución R2: 60 días refrigerada en el analizador a entre 2 y 8°C.

Obtención y manipulación de muestras

Obtenga muestras de orina en recipientes limpios de cristal o plástico. Las muestras muy turbias deben centrifugarse antes del análisis. Trate la orina humana como material potencialmente infeccioso. Si se sospecha que la muestra puede estar adulterada, obtenga otra muestra para el análisis. La adulteración de las muestras de orina puede afectar a los resultados del análisis.

Las pautas indicadas en *The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice* recomiendan que las muestras que no se analicen en los 7 días posteriores a su llegada al laboratorio se conserven en unidades de refrigeración seguras.[9]

Procedimiento del análisis

Para la realización de este análisis pueden utilizarse analizadores químicos capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir índices enzimáticos y cronometrar la reacción de manera precisa. Microgenics, parte de Thermo Fisher Scientific puede suministrar hojas de aplicación con los parámetros específicos de los instrumentos.

Se suministran etiquetas de códigos de barras adicionales para la determinación semicuantitativa con los kits de 17 mL y 65 mL solamente. Para emplearlas, pegue la etiqueta correcta a cada envase.

Control de calidad y calibración[10]

Análisis cualitativo

Para **el análisis cualitativo** de muestras, utilice el calibrador CEDIA multidrogas con cut-off primarios, cut-off clínicos primarios, cut-off optativos o cut-off secundarios (según el cut-off seleccionado) para analizar los resultados. (En el análisis de alta sensibilidad, utilice solamente el cut-off secundario.) Consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Análisis semicuantitativo

Para **el análisis semicuantitativo** de muestras, utilice el calibrador CEDIA multidrogas con cut-off primarios, cut-off clínicos primarios, cut-off optativos o cut-off secundarios (según los cut-off seleccionados) junto con el calibrador negativo y los calibradores multidrogas intermedio y alto para analizar los resultados. Consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Las prácticas correctas de laboratorio recomiendan analizar los controles cada día que se analicen las muestras y cada vez que se realice una calibración. Se recomienda efectuar dos niveles de controles: uno 25% por encima y otro 25% por debajo del valor de cut-off elegido. Utilice el conjunto CEDIA de controles multidrogas, el conjunto de controles clínicos (cut-off 300), el conjunto de controles específicos o el conjunto de controles optativos (cut-off 200) para el control de calidad. Volver a calibrar el análisis si se cambian los reactivos o si los resultados de los controles exceden los límites fijados. Cada laboratorio debe fijar su propia frecuencia de control. Base la evaluación del control de calidad en los valores obtenidos con los controles, que deben estar dentro de los límites especificados. Si se detectan tendencias o cambios repentinos de los valores, revise todos los parámetros operativos. Para obtener más ayuda, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica al cliente. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse de acuerdo con las normas o los requisitos de acreditación locales, estatales o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

Los calibradores CEDIA multidrogas con cut-off primarios, cut-off clínicos primarios, cut-off optativos o cut-off secundarios se utilizan como referencia para distinguir entre muestras positivas y negativas. Las muestras que produzcan valores de respuesta iguales o superiores al valor de respuesta del calibrador se consideran positivas. Las muestras que produzcan valores de respuesta inferiores al valor de respuesta del calibrador se consideran negativas. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Resultados semicuantitativos

El calibrador CEDIA multidrogas con cut-off primarios, cut-off clínicos primarios, cut-off optativos o cut-off secundarios, utilizado junto con el calibrador negativo y los calibradores multidrogas intermedio y alto, puede utilizarse para estimar la concentración relativa de benzodiacepinas.

En el cálculo de la concentración deben tenerse en cuenta factores que puedan influir en el resultado de los análisis de orina, como pueden ser la ingestión de líquidos y otros factores biológicos.

Limitaciones

1. Un resultado positivo en el análisis indica la presencia de benzodiacepinas; no indica ni mide la intoxicación.
2. Existe la posibilidad de que otras sustancias o factores no mencionados interfieran en el análisis y causen resultados falsos (p. ej., errores técnicos o de procedimiento).

Características específicas de rendimiento

A continuación se muestran los resultados de rendimiento típicos obtenidos con el analizador Hitachi 717.[11] Los resultados obtenidos en su laboratorio pueden ser distintos a estos datos.

Precisión

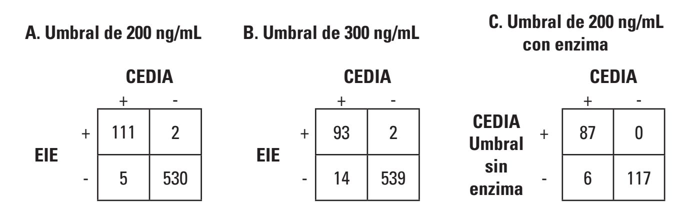
El siguiente estudio se efectuó utilizando la aplicación sin β-glucuronidasa. Los datos resultan representativos para ambas aplicaciones.

Los estudios de la precisión medida realizados con reactivos, calibradores y controles envasados arrojaron los siguientes resultados en mA/min con un analizador Hitachi 717 siguiendo las pautas de realización del experimento de repeticiones NCCLS modificado (6 repeticiones dos veces al día durante 10 días).

	Precisión en la serie				Precisión total			
ng/mL	200	225	300	375	200	225	300	375
n	120	120	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	324,3	340,6	366,1	402,0	324,3	340,6	366,1	402,0
SD	2,4	2,7	2,8	3,7	11,4	12,5	13,2	14,6
CV	0,8%	0,8%	0,8%	0,9%	3,5%	3,7%	3,6%	3,6%

Exactitud

Se analizaron 648 muestras de orina en el Hitachi 717 con el análisis CEDIA Benzodiacepinas y un enzimoinmunoanálisis (EIA) como referencia (A y B). Se examinaron 200 pruebas clínicas adicionales y 10 pruebas inoculadas (se inoculó nitrazepam hasta obtener una concentración del +25% del valor del cut-off de 200 en orina negativa) con y sin enzima (β-glucuronidasa) en un analizador Hitachi 717 (C). Los resultados se detallan a continuación:[11]



A. Umbral de 200 ng/mL

		CEDIA +	CEDIA -
EIE	+	111	2
EIE	-	5	530

B. Umbral de 300 ng/mL

		CEDIA +	CEDIA -
EIE	+	93	2
EIE	-	14	539

C. Umbral de 200 ng/mL con enzima

		CEDIA +	CEDIA -
CEDIA Umbral sin enzima	+	87	0
CEDIA Umbral sin enzima	-	6	117

Especificidad

Al analizar los siguientes compuestos originales y metabolitos con el análisis CEDIA Benzodiacepinas (sin β-glucuronidasa) y con el análisis de alta sensibilidad (con β-glucuronidasa), se obtuvieron los siguientes resultados de reactividad cruzada:

Compound	Without β-Glucuronidase		With β-Glucuronidase	
	Tested (ng/mL)	%Cross-Reactivity	Tested (ng/mL)	%Cross-Reactivity
7-NH_2-Flunitrazepam	-	-	200	99
7-NH_2-Nitrazepam	-	-	250	83
α-OH-Alprazolam	163	188	115	167
α-OH-Triazolam	150	193	125	155
Alprazolam	138	205	100	220
Alprazolam glucuronide	-	-	200	100
Bromazepam	300	110	190	104
Chlordiazepoxide	2083	13	1200	16
Clobazam	400	62	300	59
Clonazepam	188	140	225	71
Clorazepate	325	84	300	75
Delorazepam	150	184	100	197
Demoxepam	1900	14	1000	19
Desalkylflurazepam	138	210	115	173
Diazepam	110	247	125	154
Estazolam	125	220	95	239
Flunitrazepam	188	135	175	109
Flurazepam	150	189	100	195
Halazepam	200	145	200	101
Lorazepam	208	122	175	115
Lorazepam glucuronide	10000	1	400	45
Lormetazepam	163	165	150	137
Medazepam	200	135	150	118
NH_2-Clonazepam	-	-	200	96
Nitrazepam	300	100	200	100
Nordiazepam	150	211	120	173
Oxaprozin	10000	2	10000	2
Oxazepam	275	107	165	125
Oxazepam glucuronide	10000	1	800	25
Prazepam	150	184	160	116
Temazepam	175	144	180	93
Temazepam glucuronide	10000	1	750	25
Triazolam	138	191	90	217

Se analizaron compuestos no relacionados estructuralmente mediante el análisis CEDIA Benzodiacepinas (protocolo de cut-off de 300 ng/mL), y se obtuvieron respuestas negativas cuando se probaron las concentraciones indicadas a continuación. Con el protocolo de alta sensibilidad de cut-off de 200 ng/mL se observan resultados similares.

Compuesto	ng/mL	Compuesto	ng/mL
11-nor-Δ^9-THC-COOH	10.000	Fenobarbital	500.000
Ácetaminofeno	500.000	Fluoxetina	500.000
Ácido acetilsalicilico	500.000	Ibuprofen	500.000
Acido salicilúrico	500.000	Levotiroxina	50.000
Ámfetamina	500.000	Metadona	100.000
Ámoxicillina	100.000	Metanfetamina	500.000
Benzoilecgonina	500.000	Morfina	100.000
Captopril	500.000	Nifedipina	500.000
Cimetidina	500.000	Propoxifeno	500.000
Codeina	500.000	Ranitidina	500.000
Digoxina	100.000	Secobarbital	500.000
EDDP	500.000	Sertralina	250.000
EMDP	100.000	Tolmetina	500.000
Enalapril	500.000	Verapamil	500.000
Fenciclidina	250.000		

No se observaron interferencias de las siguientes sustancias añadidas a las concentraciones endógenas normales encontradas en orina cuando se analizaron con el análisis CEDIA Benzodiacepinas:

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Acetona	≤ 1,0 g/dL	Galactosa	≤ 10 mg/dL
Ácido ascórbico	≤ 0,15 g/dL	γ–globulina	≤ 0,5 g/dL
Ácido oxálico	≤ 0,1 g/dL	Glucosa	≤ 3,0 g/dL
Albúmina de suero humano	≤ 0,5 g/dL	Hemoglobina	≤ 0,3 g/dL
Cloruro sódico	≤ 6,0 g/dL	Riboflavina	≤ 7,5 mg/dL
Creatinina	≤ 0,5 g/dL	Urea	≤ 6,0 g/dL
Etanol	≤ 1,0 g/dL		

Sensibilidad

Aplicación estándar

El límite de detección (LDO) de la aplicación cualitativa fue 10,8 ng/mL y 12,8 ng/mL con los protocolos de cut-off de 200 ng/mL y 300 ng/mL, respectivamente. El límite de detección (LDO) de la aplicación semicuantitativa fue 6,4 ng/mL y 8,3 ng/mL con los protocolos de cut-off de 200 ng/mL y 300 ng/mL, respectivamente.

Aplicación de alta sensibilidad para benzodiacepinas

El límite de detección (LDO) de la aplicación cualitativa fue 12,3 ng/mL. El límite de detección (LDO) de la aplicación semicuantitativa fue 7,3 ng/mL.

Bibliografía

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang,C N, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986; 73: 30-41.
2. Katzung BG, ed. Basic and clinical pharmacology. 5th ed. Norwalk, Conn: Appleton & Lange, 1992.
3. Julien RM.. A primer of drug action. 6th ed. New York, NY: W.H. Freeman & Co; 1992.
4. Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics. 8th ed. New York, NY: Pergamon Press, 1990.
5. Adams EH. Prevalence of prescription drug abuse: Data from the National Institute on Drug Abuse. NY State J Med 199; 91 (suppl 11): 32s-36s.
6. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et al. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32: 1637-1641.
7. Beck O, Lafolle P, Hjemdahl P et al. Detection of Benzodiazepine Intake in Therapeutic Doses by Immunoanalysis of Urine: Two Techniques Evaluated and Modified for Improved Performance. Clin Chem. 1992; 38: 271-275
8. Simonsson P, Liden A, Lindberg S. Effect of a-Glucuronidase on Urinary Benzodiazepine Concentrations Determined by Flourescence Polarization Immunossay. Clin Chem. 1995; 41: 920-923
9. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Final guidelines. Federal Register. 1994; 110 (June 9): 11983. (Las pautas revisadas se esperan para el año 2002).
10. Datos sobre trazabilidad archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.
11. Datos archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.



Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 EE.UU.
Servicio al cliente y de
asistencia técnica en EE.UU:
1-800-232-3342



EC REP

Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300



Para actualizaciones de folletos, visite:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:
Póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.



10006458-2_ES
2012 07